



**Fledermausarten in Mitteleuropa**  
- Überregionale Faunenkartierung mit Schwerpunkt Biologie, Verbreitung und Bedrohung

**Der lange Weg zu humanen Organoiden** - ein neues Feld der regenerativen Medizin

**Vom *Homo oeconomicus* des 19. Jahrhunderts zum *Homo sustinens* des 21. Jahrhunderts**

**Erstmals Textilreste an Mumien untersucht** - Jenaer Forscher untersuchen Mumien aus dem Bestand von Theodor Meyer-Steineg

**Rundschau**

Die soziale Struktur der Awaren • Vielversprechender Ansatz zur Synthese superschwerer Elemente • Dra-

matische Schwammbleiche in Neuseeland • Dopamin als Mittel gegen Alzheimer • Teile des Signalnetzes der Abscisinsäure geklärt • Manipuliert Spinne einen Leuchtkäfer für den Beuteerwerb? • Proto-Kugelsternhaufen aus dem frühen Universum • Asexuelle Amazonenpopulationen bei Braunalgen

**Bücher:** Neuerscheinungen

**Personalia**

**Stichwort:** Herz über Kopf

**Retrospektive:** *Nobelpreis für Physiologie oder Medizin 1974*

Beilage **TECHMAX** der Max-Planck-Gesellschaft

**11**

November 2024

77. Jahrgang

€ 26,50

E 9981

# Naturwissenschaftliche Rundschau

Organ der  
Gesellschaft Deutscher  
Naturforscher und Ärzte

**NR**

**917**



# Inhalt

## ÜBERSICHT

Robert Sturm

### Fledermausarten in Mitteleuropa - Überregionale Faunenkartierung mit Schwerpunkt Biologie, Verbreitung und Bedrohung.....516

Fledermäuse sind vor allem in Mitteleuropa von einer immer stärkeren Reduktion und Zerstörung ihres Lebensraums bedroht, weshalb bereits etliche Initiativen zum Schutz dieser einzigartigen Tiere ins Leben gerufen wurden. Der vorliegende Beitrag soll einen Überblick über die in Mitteleuropa beheimateten Fledermäuse und ihre Besonderheiten liefern.



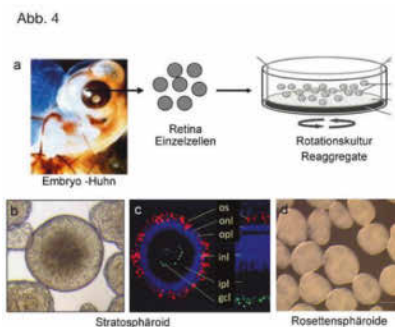
Porträt der Alpenfledermaus (*Hypsugo savii*).  
[Foto: Robert Sturm]

## FORSCHUNG

Paul Gottlob Layer

### Der lange Weg zu humanen Organoiden - ein neues Feld der regenerativen Medizin .....522

Die Netzhaut (Retina) im Wirbeltierauge ist ein hervorragendes Modell, um die dreidimensionale Rekonstruktion eines komplexen laminaren Nervengewebes *in vitro* nachzubilden und zu analysieren.



Die ersten retinalen Organoiden – sog. Stratosphäroide – wurden aus Retinae des Hühnerembryos gezüchtet. [Abb.: G. Vollmer *et al.*, 1984]

## KONZEPTE UND GESCHICHTE

Reinhard Piechocki

### Vom *Homo oeconomicus* des 19. Jahrhunderts zum *Homo sustinens* des 21. Jahrhunderts.....532

Viele der bisher etablierten Begriffe, mit denen die Besonderheiten des *Homo sapiens* beschrieben werden, wie z.B. *Homo oeconomicus*, *Homo faber* und *Homo politicus*, fanden Eingang in die Alltagssprache. Im 21. Jahrhundert könnten Epitheta wie *Homo oecologicus* und *Homo sustinens* zu Leitbegriffen werden; sie werden in diesem Teil II der Kurzserie zu den *Homo-Epitheta* näher betrachtet.



Vom *Homo ludens* zum *Homo faber* zum *Homo oecologicus*.

## FORSCHUNG

E. Paust, F. Leibe, U. Hofsfeld

### Erstmals Textilreste an Mumien untersucht - Jenaer Forscher untersuchen Mumien aus dem Bestand von Theodor Meyer-Steineg .....540

Die Ur- und Frühgeschichtliche Sammlung der Unit Jena enthält zwei südamerikanische Kindermumien und 17 Fragmente ägyptischer Mumien. Diese wurden u.a. radiologisch untersucht und dabei auch - weltweit erstmalig - textile Reste an den Mumien analysiert.



Südamerikanische Kindermumie mit deutlich sichtbaren Textilresten. [Foto: J. Meyer, Universität Jena]

# Der lange Weg zu humanen Organoiden

## Gewebebildung aus Stammzellen begründet das neue Feld der regenerativen Medizin

**Vor etwas mehr als hundert Jahren begann die Geschichte der Kultivierung von Zellen in Suspension (auch bekannt als „Schüttelkulturen“), die in der Folge wesentliche Einblicke in histogenetische Prozesse erbracht hat, wie etwa die Zellkommunikation, die Unterscheidung zwischen Selbst und Nichtselbst, die Zellsortierung und die Zelladhäsion. Neben anfänglichen Studien an niederen Tieren wurde die Netzhaut (Retina) im Wirbeltierauge zu einem hervorragenden Modell, um die dreidimensionale Rekonstruktion eines komplexen laminaren Nervengewebes *in vitro* nachzubilden und zu analysieren. In methodischer Hinsicht ist es entscheidend, die Zellen ständig in Suspension zu halten, um eine Gewebsreorganisation in Kultur zu ermöglichen. Dabei bestimmen die jeweiligen Kulturbedingungen die sich herausbildenden (emergierenden) gewebetypischen Eigenschaften. \***

Der derzeitige Fortschritt in der regenerativen Medizin beruht zu einem Großteil auf sogenannten menschlichen induzierten pluripotenten Stammzellen (hiPSCs), die in Suspension zu dreidimensionalen Zellkugeln kultiviert werden. Indem diese so genannten Organoiden durch gezielte genetische Steuerung unterschiedlich histotypisch ausdifferenziert werden, stellen sie einerseits vielfach einsetzbare exzellente Analysemodelle (z.B. als Tierversuchersersatz), andererseits auch mögliche Ausgangsgewebe für Transplantationen dar. Als ein kugelförmiges, annähernd vollständig laminiertes Retinareaggregat aus embryonalen Hühneraugen im Jahre 1984 gezüchtet werden konnte, kündigte dieser Meilenstein das Potential von Stammzellen in Schüttelzellkultur für diesbezügliche Zwecke an.

### Die Züchtung von Zellen in Zellkultur reicht in das 19. Jahrhundert zurück

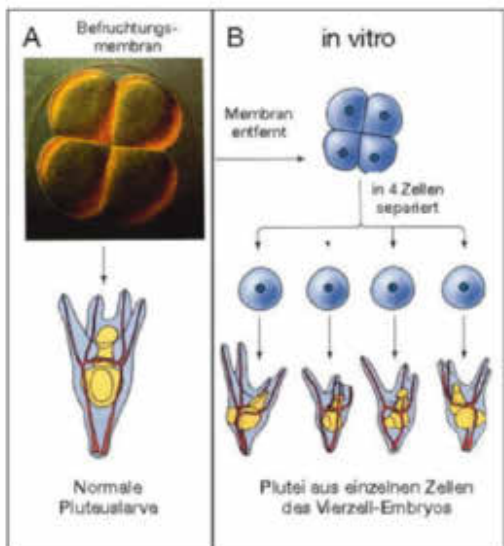
Die Zelltheorie wurde im 19. Jahrhundert durch Schleiden und Schwann (1839), und sodann durch Virchow („*omnis cellula e cellula*“) und andere begründet (s. Jahn, 2002; Gilbert und Barresi, 2020) [2, 3]. Ross Harrison wird allgemein als Vater der Zellkulturtechnik betrachtet, weil er in einem Experiment von 1907 Neuroblasten des Froschs in einem Lymphe enthaltenden Medium wachsen lassen konnte [4]. Allerdings hatten schon gegen Ende des 19. Jahrhunderts Embryologen, die die Befruchtung und Furchungsprozesse untersuchten, den Weg in die Zellkulturtechnik gebahnt. Was mit Wilhelm Roux's Untersuchung der Furchungsteilungen bei der Froschlarve begonnen hatte [5],

wurde nach und nach mit der Zellkultivierung von mazeriertem Gewebe von Pflanzen und niederen Tieren fortgesetzt, wie etwa in ihre Einzelzellen zerlegten (dispergierten) Schwämmen oder der Seeigellarve. Was heute meist vergessen wird ist, dass diese Experimente damals in mit Salzwasser beschickten Glasschalen durchgeführt wurden (daher der Ausdruck „*in vitro*“), wobei die dispergierten Zellen in Suspension und damit in ständiger Bewegung gehalten wurden. Somit begann das weite Feld der Zellkulturtechniken mit Suspensionskulturen, die auch als Schüttel- oder Rotationskulturen bezeichnet wurden. Erst später kamen dann andere Zellkulturtechniken vornehmlich zum Einsatz, wie etwa die „*hanging drop*-Methode“ (wie bei Harrison, s. oben), oder vor allem dann die Standkulturen, welche bald zum Goldstandard aller Zellkulturtechniken avancierten. Wollen wir die Ursprünge heutiger Zellsphäroide und Organoiden erhellen, so verdienen die bedeutenden Reaggregationsversuche von Henry van Peters Wilson und des eminenten Hans Driesch besondere Beachtung (Abb. 1, 2).

### Regulation und Regeneration – Drieschs „Schüttelversuche“ am Seeigel

Hans Driesch untersuchte die Entwicklungsmöglichkeiten von Furchungszellen des Seeigels mit der Absicht, die damals weitgehend akzeptierte Mosaiktheorie von Wilhelm Roux [5] sowie die *Keimplasmatheorie* von August Weismann zu bestätigen (Übersicht in [2]). Ein bestimmter Versuch wurde bedeutsam für die gesamte Zellbiologie, indem er die biologischen Phänomene von *Regeneration* und *Regulation* eindrücklich beleuchtete. Die

\* Dies ist eine deutsche veränderte Fassung des Übersichtsartikels „*In a century from agitated cells to human organoids*“ in doi.org/10.1016/j.jneu.meth.2024.110083 [1].



Hans Driesch

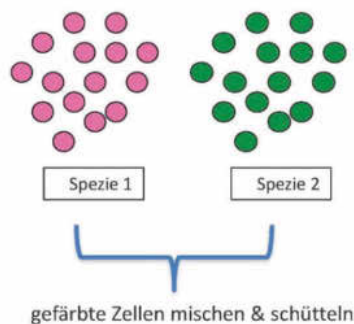
**Abb. 1** Hans Driesch zeigt, dass jede Zelle des Seeigelkeims im 4-Zellstadium das Potenzial zur Bildung einer ganzen Larve hat. Diese sind zwar morphologisch etwas unterschiedlich, bilden aber alle drei Keimblätter aus (gefärbt). [Abb.: l. aus [3]; r. via www.orgrad.wordpress.com]

se Experimente wurden als „Drieschs Schüttelversuche“ bekannt [6] (Abb. 1A zeigt Normalentwicklung, B zeigt Experiment), weil dabei die vereinzelter Zellen der Seeigellarve im 4–8-Zellstadium unter Suspension gehalten wurden (Abb. 1B). Nach Entfernung der Befruchtungsmembran hat Driesch den Embryo manuell in seine vier Zellen zerlegt (Abb. 1B). Sofern die Zellen die schwierige Prozedur überlebten, entwickelte sich – entgegen seiner Erwartung – aus jeder einzelnen Zelle eine ganze Pluteuslarve, die ebenso wie normale Larven aus drei Keimblättern abzuleiten war (siehe drei Farben für Ekto-, Meso- und

Entoderm in Abb. 1, unten). Driesch hatte damit das Phänomen der Regulation entdeckt, nämlich des Befundes, dass jede einzelne Blastomere all die Anteile ersetzen kann, welche normalerweise von den anderen drei Zellen zur Bildung des Tieres beigetragen würden (dies ist mit Regulation gemeint). Mit anderen Worten, jede Zelle in diesem frühen Entwicklungsstadium kann offenbar (unter diesen Umständen) noch ein ganzes Tier bilden: tatsächlich entspricht diese Eigenschaft genau dem, was wir heute mit dem Begriff der *totipotenten Stammzelle* (ESC) meinen. Daher kann Hans Driesch als Vater der Stammzellbiologie betrachtet werden. Tatsächlich markierten Drieschs Befunde aus seinem einfachen Experiment (das manuell allerdings anspruchsvoll war) entwicklungsbiologische Themen, die Biologen über das ganze folgende Jahrhundert bis heute beschäftigten, wie etwa die Zelldetermination, Regulation, Regeneration, Induktion, Gewebewechselwirkungen, u.a.m.. Driesch war völlig verblüfft von seinen Befunden, charakterisierte sie dann aber treffend mit seinem berühmten Satz „die prospektive Potenz von Zellen ist größer als ihr prospektives Schicksal“, was auch bedeutet, dass Zellen während der normalen Entwicklung nicht ihre volle Potenz ausschöpfen. Weil Driesch keine materialistische Erklärung für dieses Geschehen finden konnte, postulierte er eine transzendente Lebenskraft („Entelechie“), womit er zum Begründer des Neovitalismus wurde [6, 7].



Henry van Peters Wilson



gefärbte Zellen mischen & schütteln

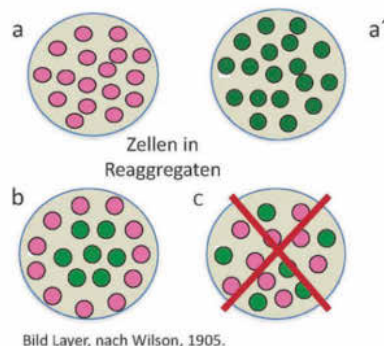


Bild Layer, nach Wilson, 1905.



Microciona prolifera

**Abb. 2** Schemabild rechts zeigt Wilsons Mischexperimente mit gefärbten Zellen von Schwämmen, welche die Segregation (*sorting-out*) von Zellen verschiedener Schwammarten zeigten (beachte: die in a-c gezeigten Kreise stellen jeweils ein einzelnes Reaggregat dar). [Quelle: 2008/03/origins-of-marine-lab.html (oben); picryl.com, FMIB 38342 (unten)]

**Die Reaggregation von dissoziierten Schwämmen belegen die Zellkommunikation und das „sorting out“**

Ein anderes Experiment, das ebenso zu wesentlichen Erkenntnissen über Zelleigenschaften führte, wurde von Henry van Peters Wilson im Jahr 1907 publiziert [8] (Abb. 2, links). Nachdem Schwämme in ihre Zellen dispergiert waren und diese dann in Salzwasser unter Rotation gehalten wurden, konnte Wilson beobachten, wie sie sich schnell zu kleinen Zellklumpen anhäuferten (Reaggregation) und somit deren Tendenz andeuteten, aneinander zu haften (Adhäsion). Tatsächlich bildeten sich aus den Zellhaufen nach einiger Zeit vollständige Schwämme (Regeneration). In einem weiteren Ansatz wurden Zellen von zwei nahe verwandten Schwammarten jeweils gefärbt und dann in einer Kulturschale vermischt und geschüttelt (Abb. 2, rechts). Auch hierbei reaggregierten die Zellen und bildeten sich Zellklumpen, wobei dann in der Folge zwei Szenarien unterschieden werden konn-

ten: 1) die Zellen der beiden Spezies blieben in separaten Reaggregaten getrennt voneinander (Aggregate a und a'), oder 2) die beiden Zellarten waren innerhalb eines Reaggregates lokal deutlich voneinander getrennt (b); sie waren jedoch niemals ungeordnet (unsepariert) innerhalb eines Reaggregats zu finden (c).

Diese Befunde aus einer einfachen Experimentalserie waren ebenso erstaunlich, wie sie gleichzeitig aufschlussreich waren: Zellen haften nicht nur aneinander, sondern sie bevorzugten gleichartige Zellen, d.h., Gleiches bleibt bei Gleichem, Kontakte mit andersartigen Zellen werden vermieden. Man bezeichnete dieses Phänomen als „*sorting out*“, oder als Zellsortierung. Derartige Experimente um die Jahrhundertwende führten zu Einsichten grundlegender Zelleigenschaften, denn das *sorting out* bedeutete nichts weniger als die Entdeckung von Zellkommunikation und der Erkennung von Selbst vs. Nichtselbst, Phänomene die erst seit den 1970-er Jahren auf einem molekularen Niveau nach und nach verständlich wurden (Zelladhäsionsmoleküle, Membrankonstitution, Membranrezeptoren, Signalvermittlung ins Zellinnere, etc.).

### Reaggregate zur Modellierung tierischer Geweberegeneration

In der ersten Hälfte des 20. Jahrhunderts hat das Thema der Regeneration und Regulation große Beachtung gefunden. So wurden etwa Nesseltiere (Cnidaria) und Plattwürmer (Planaria) in Stücke zerteilt, was zur Regeneration ganzer Tiere führte. Dabei können sich aus einem zerstückelten Plattwurm Hunderte ganzer Würmer rückbilden, während beim Regenwurm (*Lumbricidae*) aus den Stücken eines Tiers nur wieder ein Tier entsteht. Bei Wirbeltieren können einige Fischarten und Amphibien ganze Körperteile regenerieren [2]. Eidechsen lassen ihren abgeworfenen Schwanz nachwachsen. Die Netzhaut (Retina) von Fischen und Amphibien kann – zumindest bis zu bestimmten Entwicklungsstadien – regenerieren. Bei allen Wirbeltieren werden Blutzellen, Haut, Darmepithelien und die Leber fortlaufend nachgebildet.

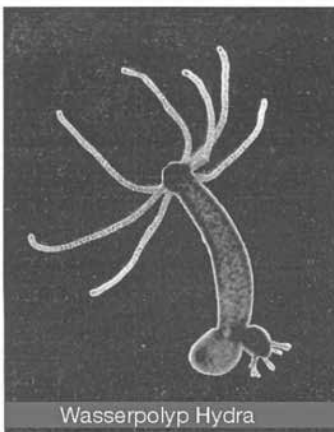
Wie ist all dies möglich, was sind die Mechanismen der Regeneration, und was könnte die ausgeprägten Speziesunterschiede erklären? Es waren nicht zuletzt Suspensionszellkulturen von verschiedenen Geweben und Organen, die schon frühzeitig da-

zu beigetragen haben, auch Fragen nach biologischer Gewebegeneration und -regeneration besser zu verstehen. Zunächst konnten DeMorgan und Drew die Befunde von Wilson an anderen Schwammarten (*Porifera*) weitgehend bestätigen [9]. Galtsoff studierte die Schwämme *Ciona* und *Cliona* in Suspensionskultur und beobachtete, wie Zellen sich wie Amöben bewegten, d.h., die aktive Zellbewegung tierischer Zellen wurde entdeckt [10]. Es vergingen weitere fünfzig Jahre, bis Alfred Gierer den Süßwasserpolyphen *Hydra* als ein hervorragendes Modelltier zur Analyse der biologischen Regeneration und Musterbildung einführte. Wenn man *Hydra* in Stücke zerteilt und die dispergierten Zellen in Suspension kultiviert, so entstehen wieder vollständige Tiere [11]. Aus der damaligen Tübinger „Polypen-Schule“ gingen Forschergenerationen hervor, welche verschiedene Cnidaria (*Hydra*, *Nematostella*) zu herausragenden Modellen für die Entwicklungsgenetik nutzbar machten [11–13] (Abb. 3). Solche Forschungen zur Regeneration biologischer Strukturen waren wichtige Wegbereiter der heute aufblühenden und so viel versprechenden *Regenerativen Medizin* (s. unten).

### Die Retina der Vögel als Reaggregationsmodell

Im Rahmen von Forschungen zur biologischen Regeneration wurde Aaron Moscona (1921–2009) einer der Väter der Zellreaggregation. Er arbeitete mit dissoziierten Zellen verschiedener Ausgangsgewebe, wie Niere, Lunge, Gehirn oder Retina, und transplantierte die gezüchteten Reaggregate auch wieder zurück in den Embryo, um deren Gewebeintegration zu untersuchen. Insbesondere avancierten Reaggregate aus der Retina des Hühnerembryos zu seinem bevorzugten Modell. Als erster hat er das *sorting out* in Mischkulturen von retinalen Zellen mit Zellen aus dem umgebenden Gewebe des retinalen Pigmentepithels (RPE) beobachtet, wobei die schwarzen RPE-Zellen ohne Markierung auf den Gewebeschnitten zu erkennen waren [14]. Etwa gleichzeitig etablierte sich in Japan eine ganze Schule mit exzellenten Beiträgen zur *in-vitro*-Geweberegeneration, die u.a. auch die Wechselwirkung von Retinazellen mit dem RPE in den Blick nahmen [15].

Das Phänomen der Zellsortierung, das *sorting out*, blieb ein Rätsel, dem sich vor allem Malcolm Steinberg zuwandte. Seine so genannte „differenzielle Adhäsionshypothese“ (DAH, [16]) war der Versuch, die Zellsortierung durch physikochemische Unterschiede der beteiligten Zelloberflächen zu erklären. DAH



**Abb. 3 - r.:** Der Biophysiker Alfred Gierer (l., hier in den 80er-Jahren mit dem Autor, r.) initiierte Reaggregationsexperimente mit dem Polypen *Hydra* (l.) und mit Retinazellen von Wirbeltieren. [Fotos: l.: Flatters & Co. aus *Marvels of the universe* (1911) via Wikimedia Commons, CC0; r.: Autor]

postuliert, dass je nach Ausstattung der Zelloberflächen mit bestimmten Zelladhäsionsmolekülen die Zellen einen bestimmten Grad an „Klebrigkeit“ („stickiness“) zeigen würden. Demzufolge werden stärker adhärierende Zellen in der Rotationskultur präferentiell aneinander haften; sie reaggregieren zuerst, bilden somit den Kern des Aggregats und separieren sich von den weniger klebrigen Zellen, welche sich je nach ihrer Adhäsionsstärke weiter außen im Reaggregat anordnen. Entsprechend finden sich RPE-Zellen, die sehr adhäsiv sind, in Mischaggregaten mit retinalen Zellen immer im Innenbereich des Aggregats. Zellen aus der Gliedmaßenanlage sind beispielsweise noch stärker adhäsiv als RPE-Zellen, weshalb sie noch weiter innen von ihnen sich ansiedeln.

Verschiedene Zelltypen lassen sich also in einer Adhäsionskala anordnen, was experimentell getestet und dokumentiert werden kann. Es muss allerdings betont werden, dass das Sortierungsverhalten nur den Beginn des Reaggregationsprozesses bestimmt (Zeitraumen von Minuten bis wenige Stunden), denn die Abläufe, die die weitere Entwicklung innerhalb der Reaggregate über Tage und gar Wochen der Kultivierung (z.B. in einem Organoid, s. unten) bestimmen, sind weit komplexer als bloße Zelladhäsion und -sortierung; tatsächlich handelt es sich um umfassende *in-vitro*-Gewebeentwicklung. Ausgehend von den Arbeiten von Fujisawa, Moscona und Steinberg hat das Labor des Autors sich mit der retinalen Gewebeentwicklung im Reaggregat intensiv befasst.

### Retinale Sphäroidtechnologie – mehr als bloße Zellreaggregation

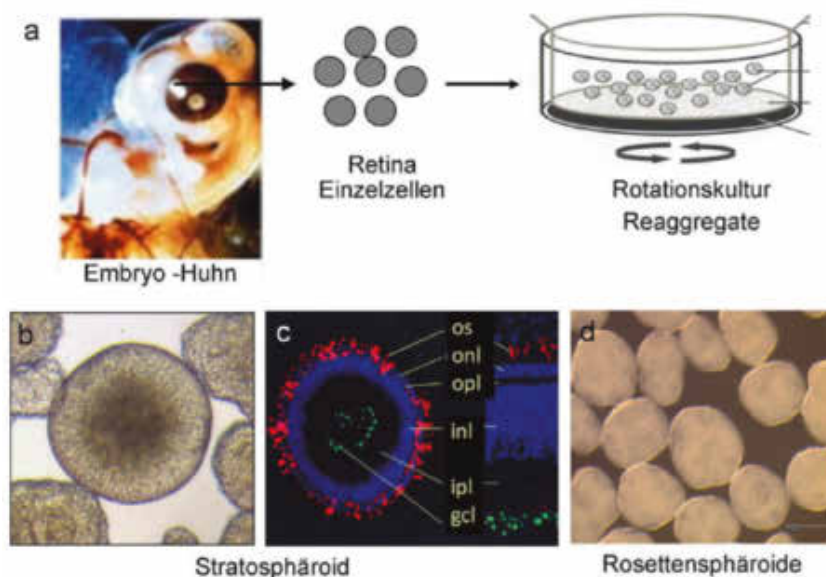
Die embryonale Retina von Huhn und Wachtel ist aus praktischen Gründen ein präferiertes Versuchsmodell. Das grundlegende Reaggregationsexperiment beginnt mit der Isolation der Retina aus drei bis sechs Tage lang bebrüteten Hühnerembryonen (Abb. 4). Unter Einsatz einer Protease wird das Gewebe in einzelne Zellen zerlegt (dispertiert). Zusammen mit einem geeigneten Medium werden die Zellen in Plastikschalen einge-

bracht und bei 37°C auf einem Rotationsgerät gleichmäßig bewegt (neben waagrecht Rundschüttlern kommen andere Geräte zum Einsatz, wie Rotationsflaschen, die *hanging-drop*-Methode sowie spezifische Zellreaktoren). Temperatur, Luftfeuchtigkeit und vor allem die Rotationsgeschwindigkeit sind empfindliche Parameter der Zellkultivierung.

Lange Zeit stellte die Zusammensetzung des Kulturmediums ein diffiziles Problem dar, aber inzwischen stehen für die meisten Anwendungen definierte Medien zur Verfügung. Schon wenige Minuten nach Kulturbeginn setzt der (Re-)Aggregationsprozess ein, wobei sich kleine Zellklumpen bilden, die schnell an Größe zunehmen. Schon in dieser Anfangsphase setzt auch das *sorting out* ein. Innerhalb der ersten beiden Tage bilden sich unregelmäßig geformte Zellkugeln (Abb. 4, rechts), deren Volumen sich auf eine annähernd gleiche optimale Durchschnittsgröße einpendelt (Kugeldurchmesser etwa 0,3–0,5 mm; Zellzahl >10<sup>6</sup>/Zellkugel). Dass die Zellkugeln nicht beliebig weiter anwachsen, hat mit der begrenzten Sauerstoff- und Nährstoffversorgung zu tun. Weil die meisten der ausgesäten Zellen sich noch im Stammzellzustand befinden, setzen sie *in vitro* ihre Vermehrung (Zellproliferation) sofort fort. Sobald sie den postmitotischen Status erreicht haben (d.h., sich nicht mehr teilen werden), beginnt die Zelldifferenzierung. Die Zellkugeln sind nun auf dem Weg, ein retinaartiges Gewebe zu organisieren.

### Erste 3D-Rekonstruktion einer Retina – vor 40 Jahren aus dem Vogelembryo

Neben den genannten unregelmäßig geformten Zellkugeln (Abb. 4, s. dazu weiter unten) konnten selten höchst gleichförmige, durchscheinende Zellkugeln beobachtet werden (Abb. 4b [17–19]). Dass sie histologisch hoch geordnet sein dürften, war schon mit bloßem Auge zu vermuten. Aufgrund bekannter Wechselwirkungen zwischen Retina und dem RPE [14, 15], wurden in der Arbeitsgruppe des Autors Mischkulturen von vereinzelten Retina- und RPE-Zellen angesetzt. Mit diesem Schlüsselexperiment ergab sich eine massive Erhöhung des Anteils an



**Abb. 4** Die ersten retinalen Organoiden – sog. Stratosphäroide (b, c) – wurden aus Retinae des Hühnerembryos gezüchtet. - **a**: Retinale Sphäroide entstehen in Suspensionskultur aus vereinzelter Zellen der frühembryonalen Hühnerretina, die im Grundansatz kartoffelförmig aussehen (**d**: „Rosettensphäroide“). - **b, c**: Kugelrunde „Stratosphäroide“ werden unter Einfluss bestimmter Faktoren stark vermehrt gebildet. - **c**: Vergleichbar mit einer Normalretina (rechts), sind auf Kryoschnitten die Zellkörper (blau) von Stratosphäroiden (c, links) in drei laminaren Zellschichten onl, inl und gcl (grün, Falschfarbe) angeordnet; Vorläufer von Photorezeptoren (Stäbchen, rot) ragen von der onl nach außen (li & re, nicht gleicher Maßstab). [Abb. aus [17]]

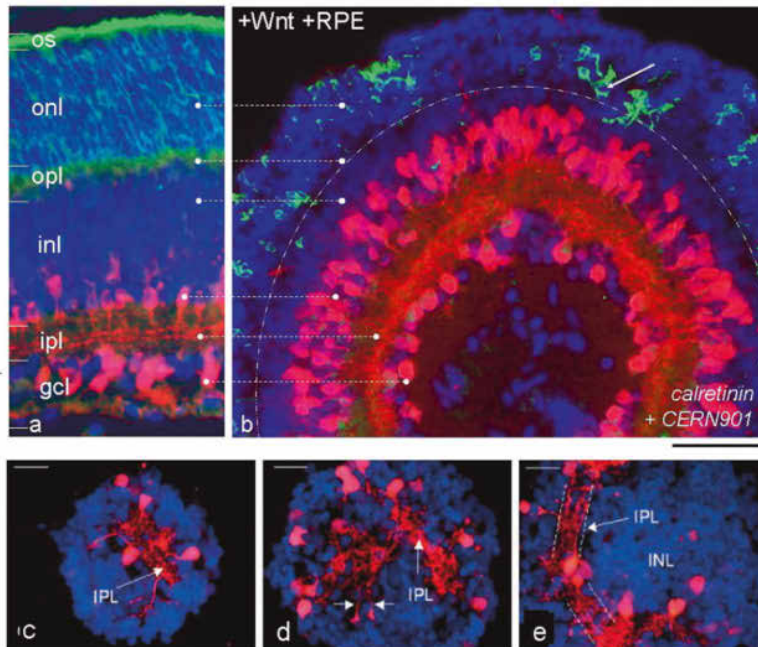
hochgeordneten Zellkugeln. Histologisch zeigten sich tatsächlich die Anlage aller drei retinalen Hauptschichten (Abb. 4c), die jede normale (*in vivo*) Wirbeltierretina in eine äußere, eine innere Körner-, sowie eine Ganglienzellschicht gliedert (Abb. 4c, 5a; Abk.: ONL, INL, GCL; *in vitro* als onl, inl, gcl markiert).

In diesen als *stratifizierte Retinosphäroide* (kurz *Stratosphäroide*) bezeichneten Kugeln kann die Differenzierung nahezu aller retinaler Zelltypen nachgewiesen werden. Die innerste Retinaschicht der Ganglienzellschicht wird nur marginal angelegt (bzw. stirbt schnell wieder ab), weil den Zellen der Kontakt zum Gehirn fehlt, das sie *in vivo* mit lebensnotwendigen Wachstumsfaktoren versorgt. Alle Zellen bilden neuronale Fortsätze, die sich in zwei sogenannten *plexiformen Schichten* synaptisch vernetzen. Besonders auffällig ist die Anlage einer breiten inneren plexiformen Schicht (IPL), in der unzählige Fortsätze von Amakrin- und Horizontalzellen in parallel (horizontal) angelegten „Sublaminae“ sich organisieren, um letztlich Verbindung mit Ganglienzellen zu suchen (s. weiter unten). Durch Variierung der Kulturansätze zeigte sich, dass die Bildung der stratifizierten Sphäroide entweder von Faktoren aus dem RPE oder aus radialen Müllerschen Gliazellen (MCs) abhängt. Auch für die Retina eines Säugetiers, der mongolischen Wüstenrennmaus (Gerbil; *Meriones unguiculatus*) konnten vergleichbare laminierte Sphäroide gezüchtet werden (Abb. 5b; [20]). Eine japanische Gruppe deckte eine wesentliche Rolle des WNT-Signalwegs bei der Bildung stratifizierter Sphäroide auf [21]. So hatten also die in 1984 publizierten stratifizierten Sphäroide aus dem Hühnerauge erstmals aufgezeigt, dass eine annähernd vollständige

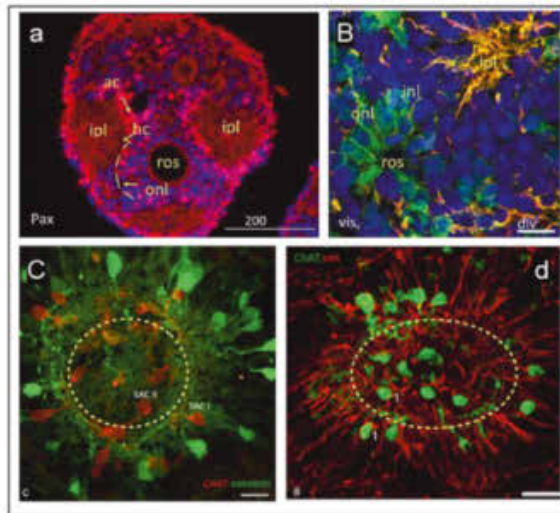
Retina *in vitro* aus dissoziierten embryonalen (Stamm-)Zellen gezüchtet werden kann [17]. Die erfolgreiche Rekonstitution eines so komplexen laminierten neuronalen Gewebes *in vitro*, das man heute als *retinales Organoid* bezeichnet, deutete schon damals an, dass dies ebenso für menschliches Retinagewebe möglich werden könnte, sobald ausreichend humane Stammzellen (hSCs) als Ausgangszellen verfügbar würden ([22, 23], s. unten).

Obwohl die Züchtung vollkommen geformter Sphäroide das finale Ziel solcher Kulturexperimente sein mußte, sind dennoch die kartoffelförmigen Reaggregate (wie in Abb. 4d) für das Verständnis der retinalen Gewebebildung nicht weniger interessant, denn durch ihre gezielte Manipulation kann – ähnlich den Driesch'schen Versuchen – kryptisches Entwicklungspotenzial bei der *in-vivo*-Netzhautbildung aufgedeckt werden. Auf histologisch gefärbten Schnitten erkennt man mehrere Zellrosetten (Abb. 6a-c, „ros“, daher die Bezeichnung „Rosettensphäroide“). Die Rosette setzt sich aus Vorläuferzellen von Photorezeptoren zusammen und stellt das Äquivalent zur ONL dar. Das Verhältnis zukünftiger Stäbchen und Zapfen in Sphäroiden wird von Wachstumsfaktoren im Medium reguliert, d.h., ist – entgegen damaliger Erwartungen – nicht genetisch festgelegt [24–26]. Physiologisch wird immerhin eine Hell-Dunkel-Lichtantwort erreicht [27]. Alle anderen Zell- und synaptischen Schichten der Retina (INL, OPL, IPL), insb. die Anlage der ersten synaptischen Sublaminae in der IPL, können aufgedeckt werden (in Abb. 6c, d als „inl“ and „ipl“ markiert; [28]. Hauptakteure dabei sind immer wieder die Müllerschen Vorläuferzellen (MCPs), die als radiale Gliazellen mit ihren langen Fortsätzen das ganze Aggregat durchziehen. Sie können sogar die Fusion und Umstülpung ganzer Schichtenbereiche betreiben und dabei zu hoch laminiertem Retinagewebe führen (Abb. 7, [29]).

Diese *in-vitro*-Ansätze zeigen, dass die MCPs plastische Alleskönner sind, ohne die eine vollständige Rekonstruktion von retinalem Gewebe *in vitro* nicht möglich wäre (s. auch retinale Organoide aus hiPSCs; [30]), eine Erkenntnis, die für das *Tissue Engineering* einer Retina bedeutsam ist. Die Übertragung der Erkenntnisse auf den Menschen muss im Einzelfall jedoch immer kritisch überprüft werden. Waren es bei der Vogelretina Vorläuferzellen von Photorezeptoren, die *in vitro* als erstes eine Rosette anlegen, so ist es beim Nagetier (mongolische Wüstenrennmaus) ein Amakrinzelltyp, der beginnt, eine ipl zu organisieren (Abb. 5c-e). Offenbar führen hier verschiedene Wege nach Rom [33]. Die Bildung eines Gewebes verdankt sich also einer umweltabhängigen Verwirklichung von Genen, was *in summa* zu einem retinaartigen Sphäroid führt, ganz im emergenten Sinne von „nicht der Weg, sondern das Ziel ist das Ziel“. Solche Beobachtungen zielorientierter Entwicklungswege können Bestrebungen nach einer erweiterten Standardlehre der Evolution nähren [34].



**Abb. 5** Rekonstruktion einer nahezu kompletten Retina eines Säugetiers, einer mongolischen Wüstenrennmaus (**b**; vgl. a, neonatale Retina, Abb. aus [20]), wobei Wnt-3b die Bildung laminiertes Stratosphäroide induziert [21]; ACs, rot; PR, grün. - **c-e**: Im Gegensatz zur Vogelretina, beginnt die *in vitro*-Retinabildung bei diesem Nagetier mit der Anlage einer IPL. Ein bestimmter Amakrinzelltyp – zeitlich fortschreitend von c bis e – vernetzen sich dessen Fortsätze in IPL-Sublaminae.



**Abb. 6** In Rosettensphäroiden des Huhns (vgl. Abb. 4d) sind Module der äußeren („ros“, PR-Rosette) und der inneren Retina (ipl-Areale) vorhanden. - **a**: Schnitt eines Sphäroids zeigt Rosetten (ros) von unreifen Photorezeptoren und von Amakrinzellen (ac, rot), sowie IPL-artige Bereiche (ipl). - **b**: Rosette mit PRs (grün; Zellkörper blau), benachbarter IPL-Bereich ist von radialen MC-Fortsätzen durchzogen (gelb). - **c** und **d**: ein cholinerg Amakrinzelltyp zusammen mit Radialgliafortsätzen leiten die synaptische Vernetzung in der IPL ein (gestrichelt eingekreist), an der sich Sublaminae weiterer Amakrinzellen orientieren (c: rot, ChAT+; grün, Calretinin+; d: ChAT+; grün, MCPs, rot). [Abb. P.G. Layer]

### Organoid-Technologien stehen auf zwei Säulen: 3D-Reaggregation und humane Stammzellen

Unabhängig vom Fortschritt der Sphäroidtechnologien bemühten sich Stammzellbiologen schon lange, sogenannte pluripotente Stammzellen (PSC) aus Blastozysten von Säugetieren (s. Glossar: PSC, Keimblätter, Blastocyste) herzustellen und so zu manipulieren, dass aus ihnen im Prinzip alle Zelltypen des Körpers gezielt gezüchtet werden können. Dieses hochgesteckte Ziel wurde schließlich durch die Aufklärung weniger molekularer Veränderungen an sogenannten embryonalen Stammzellen (ESCs, s. Glossar) aus der Maus, und dann auch aus menschlichen Blastozysten erreicht (s. dazu unten). Dazu mußte die Behandlung der Zellen verschiedentlich angepasst werden, wozu typischerweise auch die Suspension und Bewegung der Zellen gehörte (gelegentlich wurden im Ansatz 2D-Standkulturen mit 3D-Suspensionskulturen kombiniert). Durch diese Hintertür kam die Reaggregationstechnik in der Stammzellforschung wieder auf die Agenda.

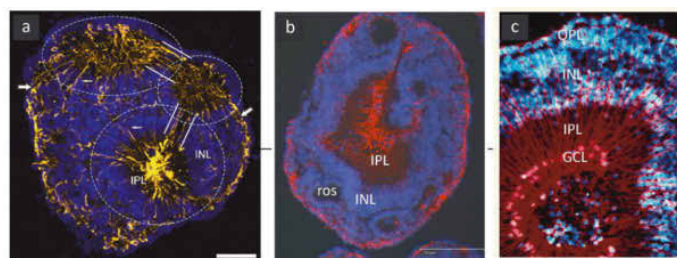
Bald blieb es nicht nur Ziel, aus den ESCs einen bestimmten Zelltyp züchten zu wollen, sondern Stammzellforscher nahmen nun die Produktion ganzer Gewebe, ja sogar ganzer Organe in den Blick. Das daraus neu entstandene Forschungsfeld des *Tissue Engineering* (TE) stand somit von

Anfang an auf zwei Beinen, nämlich 1. der Manipulation von (insb. humanen) ESCs, und 2. deren Züchtung im Reaggregationsansatz. Tatsächlich ist inzwischen der Fortschritt in der Anwendung von Organoiden als TE-Plattformen für physiologische und pathologische Testsysteme beachtlich. So werden etwa aus Stammzellen produzierte Herzorganoide die kardiovaskuläre Forschung und deren Medikamentenentwicklung weiter voranbringen [35]. Auf dem Gebiet der Hirnerkrankungen wird der Einsatz von so genannten Assembloiden erforscht; diese stellen reaggregierte Organoiden aus pluripotenten SCs dar, die über Monate am Leben erhalten werden können und an denen neuronale Netzwerkentwicklung samt elektrophysiologischer Funktionalität analysiert werden kann [36]. Diese Liste ließe sich vielfach verlängern.

### Die Erfindung der iPSCs – ein Durchbruch in der Stammzellbiologie

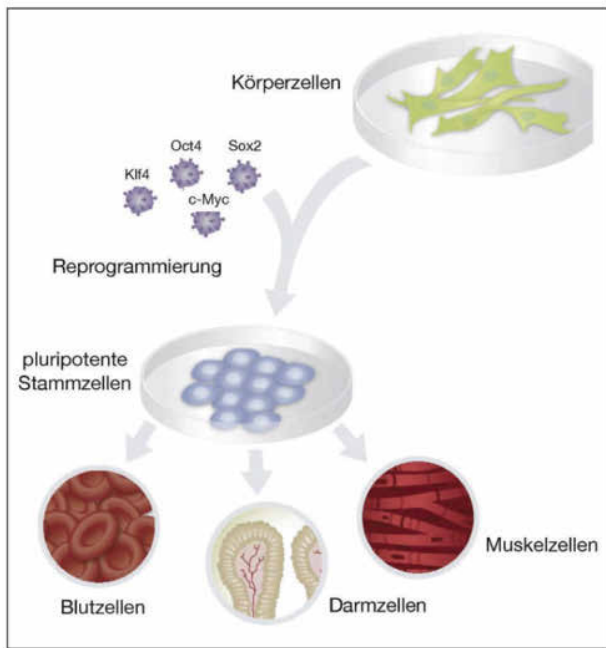
Trotz bemerkenswerter Fortschritte mit ESCs aus der Blastozyste im Labormaßstab stellten sich gewaltige Probleme mit deren beabsichtigter medizinischer Einsetzbarkeit ein. Die Zellzahlen, die man aus Blastozysten gewinnen konnte, sind zu gering für einen regelmäßigen klinischen oder gar industriellen Einsatz (z.B., für Gewebebezug beim TE). Vor allem aber waren die absehbaren ethischen Probleme praktisch unlösbar: woher sollte man unbegrenzte Mengen humaner ESCs für Forschung und industriellen Einsatz im großen Stil, oder gar für Geweberegeneration und -transplantationen am Patienten beziehen? Jedermann war klar, dass eine Verwendung von ESCs aus abgetriebenen Föten kein gangbarer Weg sein könnte. In eine ethisch so zweifelhafte Unternehmung zu investieren, verbat sich von selbst.

Die Lösung des Problems kam fast wie über Nacht im Jahr 2006, als der Japaner Shinya Yamanaka zusammen mit seiner Mitarbeiterin Kazutoshi Takahashi die so genannte *Reprogrammierung* entwickelt hatte, ein genetisches Verfahren, mit dem man adulte Fibroblasten in so genannte *induzierte pluripotente Stammzellen* umwandeln konnte (iPSCs; [37]; Abb. 8). Der Zweck des Verfahrens besteht darin, den ausdifferenzierten Sta-



**Abb. 7** Transformation von Rosettensphäroiden in Stratosphäroide wird von radialen Müllergliazellen (MCs) angetrieben. - **a**: Gliale Zellfortsätze (gelb) stellen Verbindungen zwischen mehreren IPL-Bereichen her, was zur Umorganisation von Zellkörperschichten (blau) führt. - **b**: Ein Rosettensphäroid in fortgeschrittenem Stadium der Transformation. Die stark rot gefärbten Endfüßchen der Radialglia markieren die entstehende IPL im Zentrum sowie – der ONL außen anliegend – den äußeren Rand des Sphäroids. Mehrere Rosetten öffnen sich und fusionieren. - **c**: Ein dreifach geschichtetes Stratosphäroid wird vollständig von außen nach innen von Müllerscher Radialglia (rot; Zellkörper blau) durchzogen und stabilisiert. [Abb. P.G. Layer]





**Abb. 8:** Reprogrammierung von Körperzellen in pluripotente Stammzellen und deren Differenzierung zu neuen Körperzellen und Geweben. [Abb. Univ of Utah via <https://www.max-wissen.de/max-hefte/bio-max-10-stammzellen/>]

tus der Fibroblasten (z.B. aus der Haut eines erwachsenen Patienten gewonnen) in den frühembryonalen Status von ESCs zurückzuführen (Reprogrammierung). Der Trick der Japaner war, die Expression weniger Gene, die für die Frühentwicklung unentbehrlich sind, in passender Kombination zu reaktivieren (insb. KLF4, SOX2, c-Myc, Nanog, Oct3/4, Lin-28). Mit der Einführung dieser genialen Zelltechnik änderte sich die ganze Stammzellbiologie tatsächlich über Nacht, es war ein Befreiungsschlag, der den Weg zu einer ethisch unbedenklichen Produktion unbegrenzter Mengen von iPSCs freimachte, menschliche Blastozysten waren damit überflüssig geworden. Nun wurde auch *Tissue Engineering* zur echten machbaren Option, die Türe zur *Regenerativen Medizin* hatte sich weit geöffnet.

**Von Zellsphäroiden zu retinalen Organoiden: „optische Vesikel“ aus iPSCs**

Die Retina von Wirbeltieren mit ihrer geringen Zahl verschiedener Zelltypen und ihrer übersichtlichen dreifachen Zellschichtung war und ist ein bevorzugtes Forschungsobjekt für Stammzellbiologen und „Gewebs-Ingenieure“. Mehrere Arbeitsgruppen haben beträchtliche Fortschritte in der Produktion von hoch organisierten Retinasphäroiden aus pluripotenten Stammzellen erzielt (z.B. [30, 38–40], Abb. 9b), wobei eine vollständige Rekonstruktion von retinalem Gewebe bisher noch nicht gelungen ist. Im äußeren Bereich solcher „optischer Vesikel“ zeigten sich Photorezeptoren schon relativ weit ausdifferenziert, während der innere Teil des Retinagewebes deutlich zurückge-

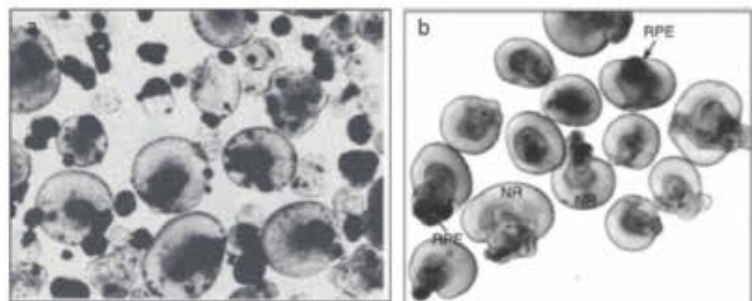
blieben war [39]. Insbesondere fehlte eine Sublaminiierung der IPL, wie sie in Stratosphäroiden aus der Hühnerretina nachzuweisen ist (s. oben). Es ist bemerkenswert, dass die *in vitro* gefundenen Genkaskaden und deren Zeitverläufe über viele Wochen hinweg mit den entsprechenden Prozessen bei der Normalentwicklung der menschlichen Retina zu vergleichen sind. Diese Kenntnisse sind wichtig, um die *in-vitro*-Produktion von retinalem Gewebe weiter zu optimieren. Die frappierenden Ähnlichkeiten zwischen den aus iPSC erhaltenen Strukturen und den Retinasphäroiden aus Embryonen von Huhn oder Nager (s. oben, Abb. 9) legen nahe, dass die Produktion von menschlicher Retina auch weiterhin vom umfangreichen Kenntnisschatz aus Tierstudien schöpfen kann.

**Hirn-Organoiden repräsentieren spezifische Hirnareale**

Mit der Erfindung von iPSCs schoss das Forschungsfeld der Gewebebezücht (TE) im Rahmen der Stammzellbiologie förmlich durch die Decke. In schneller Folge wurden aus iPSCs Organoide für Lunge, Dünndarm, Prostata, Niere, Auge und Hirngewebe erfolgreich gezüchtet, wobei humane Organoide natürlich im Vordergrund stehen [41]. Ein frühes Projekt machte Schlagzeilen, als Madeleine Lancaster und Jürgen Knoblich in Wien hoch organisierte neurale Organoide aus iPSCs produzieren konnten, in denen definierte Gehirnregionen rekonstruiert waren [42], Abb. 10). Dabei wurde auch gezeigt, wie man solche Organoide nach entsprechender genetischer Manipulation als *in-vitro*-Modelle zur Untersuchung bestimmter Hirnerkrankungen, wie etwa Demenzen, heranziehen kann [43]. Gleichzeitig können an/in solchen Organoiden einschlägige Medikamente erprobt und Therapien entwickelt werden, was die Anzahl notwendiger Tierversuche für die jeweilige Krankheit massiv verringern wird.

**Eine *in-vitro*-Produktion des Menschen? „Sheefs“ – synthetische Modelle des menschlichen Embryos**

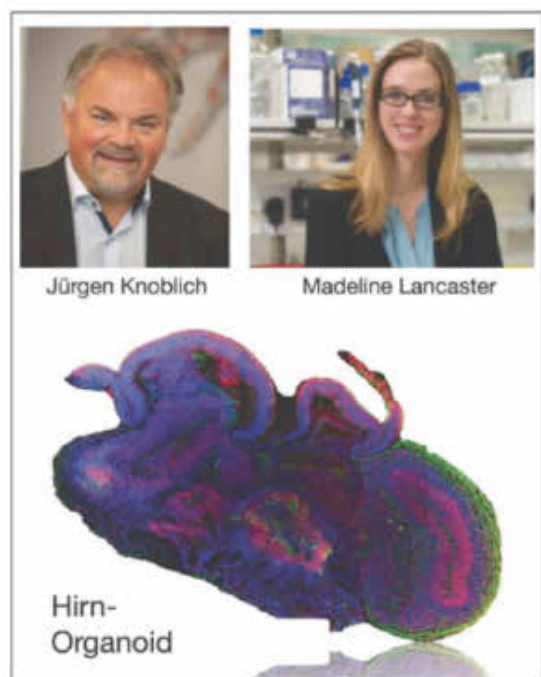
Inzwischen sind es nicht bloß Leber- oder Hirngewebe modellierende Organoide, sondern die Herstellung ganzer Embryonen aus ESCs treibt manch einen Stammzellforscher an und um. Die Reaggregation naiver pluripotenter embryonaler Stammzellen, zusammen mit genetisch transformierten ESCs aus der Maus auf einem Schüttelgerät, führte in Zellkultur zur Bildung von Organoiden, die fortgeschrittene embryonale und extraembryonale Strukturen ausgebildet hatten und somit ei-



**Abb. 9** Aus humanen iPSCs gezüchtete optische Vesikel (b; aus [39]) sind RPE-Stratosphären aus dem Hühnerembryo (a) morphologisch sehr ähnlich, was deren vergleichbare Bildungsprozesse belegt.

nem post-gastrulären Status der Maus – etwa des Embryonaltags E8.5 – glichen [44].

Wird es demnächst Menschen geben, die nicht von einem Vater und einer Mutter abstammen, sondern von einer einzigen somatischen Zelle eines einzelnen Menschen? Wir alle hoffen wohl, dass dies nicht geschehen möge. Jedoch zeichnet sich, was sich wie die jüdische Legende von Golem, eines vom Menschen hergestellten menschähnlichen Monsters, anhört, tatsächlich am Horizont ab (Abb. 11). Schlagzeilen über die Produktion von aus humanen iPSCs gezüchteten sogenannten *Gastruloids* oder auch *Sheefs* („synthetic human embryos“) machen die Runde [45]. Diese Organoiden gleichen frühen menschlichen Embryos, welche durch ihre Ausbildung eines Primitivstreifens dem Gastrula-Stadium zuzuordnen sind (entspricht kurz vor der Einnistung in Uterusschleimhaut, etwa 14 Tage nach Befruchtung). Warum will man solche Monster überhaupt züchten? Der wissenschaftliche Grund liegt darin, dass unser Kenntnis der frühesten molekularen und zellulären Entwicklungsschritte beim Säugetier, und damit auch beim Menschen tatsächlich noch lückenhaft ist. Somit bieten die *Sheefs* der Forschung den großen Vorteil, dass man an ihnen die menschliche Frühentwicklung – sozusagen Zelle für Zelle und in vitro – analysieren kann (dasselbe gilt natürlich auch für alle Haus- und Nutztiere [46]). Auf den Menschen bezogen bleibt dieses Verfahren sicherlich ethisch bedenklich [47], da *Sheefs* menschliche Embryonen darstellen, die nicht von einer Zygote, einer befruchteten Eizelle abgeleitet sind, sondern sie stammen eben von einer iPSC ab, also von einer einzelnen Person. Derzeit kann wohl noch niemand absehen, ob diese Embryonen in einem Uterus weiterleben, und schließlich als Mensch geboren werden könnten. Sicherlich braucht es für diese Forschungsrichtung eine strikte gesetzliche Regulierung.



**Abb. 10** Zerebrale Organoiden aus ESCs oder iPSCs, wie von Lancaster und Knoblich gezüchtet, zeigen regional- und schichtentypische Hirnstrukturen ([42]; Sox2, rot; Tuj1, grün). [Abb. P.G. Layer]



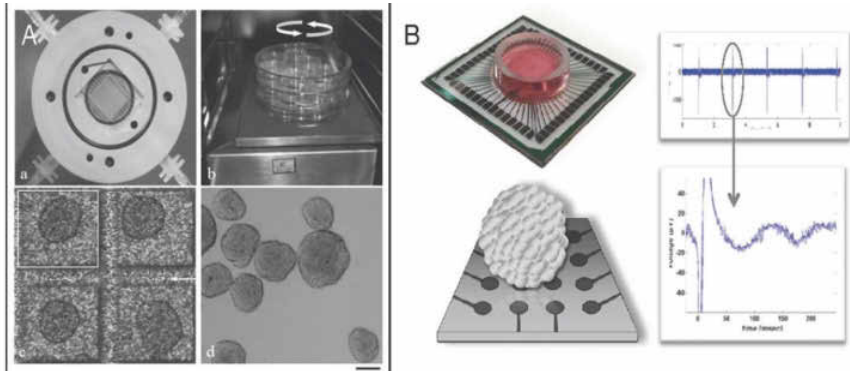
**Abb. 11** Einer Legende nach soll Rabbi Löw in Prag den Golem erschaffen haben, um dem antisemitischen Vorwurf von Ritualkindermorden entgegenzuwirken. Golem ist hebräisch für formlose Masse, ungeschlechter Mensch, aber auch – treffend hinsichtlich des vorl. Textes – Embryo. [Abb. Mikoláš Aleš (1852–1913) via Wikimedia Commons, CC0]

### Organoiden zwischen Hype, Hoffnung und Zweifeln

Der Gang durch mehr als ein Jahrhundert stammzellbiologischer Forschung hat uns bis zu einem Punkt geführt, an dem sich deren Grundlagenerkenntnisse nun als umwälzende medizinische Anwendungen auswirken. Ohne Übertreibung dürfen epochale Fortschritte in der so genannten *Regenerativen Medizin* und weit darüber hinaus erwartet werden. Basierend auf der Produktion von Organoiden aus iPSCs sind vier Anwendungsfelder in Sicht:

1. Der Einsatz von Organoiden als *in-vitro*-Testsysteme zur Analyse von Krankheiten und Therapieentwicklung, wie sie schon für cerebrale Organoiden im Einsatz sind [42]. Dabei erscheinen sogar patientenspezifische Testverfahren als möglich [48]. In als *organ-on-a-chip* oder *lab-on-chip* bezeichneten Versuchsanordnungen können viele Organoiden gleichzeitig auf elektronischen Chips angezogen werden und in Hochdurchsatzsystemen („*high throughput*“) einer Mehrfachanalyse (z.B., Genomik- & Proteomik-Analysen, Elektrophysiologie, Toxikologie, Morphologie, etc.) zugeführt werden. Solche medizintechnischen Verfahren konnten schon vor Einführung von iPSCs an den aus tierischen Zellen produzierten Sphäroiden entwickelt werden ([49–52], Abb. 12). Eine verbesserte Differenzierung und Physiologie von Photorezeptoren wurde ermöglicht, indem sieben verschiedene, aus hiPSCs gezüchtete retinale Zelltypen auf einem perfundierten Bioreaktor-Chip kombiniert wurden [53].

2. Der zweite Anwendungsbereich umfasst die Produktion von Geweben oder ganzer Organe für Implantationszwecke in der Human- und Tiermedizin. Dieses anspruchsvolle Feld befindet sich noch in mancher Hinsicht im Entwicklungsstadium. Dazu gehört die Anpassung der Kugelform der Organoiden hin zu einer in den Patienten integrierfähigen Gewebeform. Neben Verfahren der Gewebetransplantati-



**Abb. 12** Entwicklung von Testplattformen für Organoide. - **A:** Retinosphäroide der Wüstenratte in 35 mm Plastikschalen auf Rotationsschüttler kultiviert (b,d); Hochdurchsatzsysteme derselben Zellen mit Durchflusskultivierung (a, c, d); beachte: pro Mikrokavität eines Biochips (a) wächst jeweils ein Sphäroid (c). - **B:** MEA-Chiptechnologie von Sphäroiden aus Kardiomyocyten des Hühnerembryos. Sphäroide werden pharmakologisch behandelt, oder einer konstanten EMF Strahlung ausgesetzt (Daus *et al.* 2011). Unten links: Einzelnes Sphäroid wird für Messungen auf Chip mit Elektroden platziert. Rechts: Aktionspotenziale im Sphäroid werden gemessen (unten gespreizt); sie korrelieren mit den optisch sichtbaren Kontraktionsraten des Sphäroids. [Abb. aus (49, 52)]

on dürften die Verbindungen mit der Blutversorgung und dem Immunsystem große Hürden darstellen. Sicherlich wird es in der Entwicklung von Behandlungsmethoden auf die sinnvolle Kombination verschiedener Zell- und Gewebemanipulationen ankommen (z.B., für Netzhauterkrankungen, [54, 55]). Bioprinting-Verfahren können dabei jetzt schon teilweise die Produktion von Geweben unterstützen [56].

3. Innerhalb des dritten Anwendungsbereichs kommen Organoide als neue Verfahren in der Pharmakologie zur Medikamentenentwicklung, und in der Toxikologie zum Wirkstoffscreening zum Einsatz. Viele Anwendungen kündigen sich im Agrarbereich und dem Umweltschutz an. Tatsächlich kann die Bedeutung von Organoiden für die Entwicklung innovativer Verfahren in Landwirtschaft und Nahrungsmittelindustrie nicht hoch genug eingeschätzt werden [46]. Zum Beispiel wird die Organoidtechnologie analytische Plattformen bereitstellen, die nahezu alle Organe der wichtigsten Nutz- und Haustiere modellieren. So kann das Zusammenspiel zwischen Darmwand und natürlichen Microbiomen und deren potentielle Schädigung durch Pathogene untersucht, oder Toxizitätsanalysen von Futter- und Lebensmittelzusätzen durchgeführt werden. In der Tierzucht werden *in-vitro*-Konzepte zur Erzielung phänotypischer Eigenschaften diskutiert; z.B. könnten bestimmte Merkmale von Tieren (z.B. Krankheitsresistenzen, Futtereffizienz, u.v.m.) in Organoiden getestet und selektiert werden.
4. Der vierte Bereich schließlich markiert schon heute einen riesigen Fortschritt: Bevor man die Wirkungen bestimmter Substanzen ethisch bedenklich und kostenintensiv an Tieren erprobt, lassen diese sich in Organoidansätzen bestens analysieren (z.B. optimale Dosierung, etc.). Endlich bieten sich damit vielversprechende Tierversuchs-Ersatzmethoden an, mit denen sich die gesetzlich vorgeschriebenen Tierversuchszahlen im Grundlagenbereich und vor allem in den technisch-industriellen Anwendungen (pharmazeutische,

kosmetische, Nahrungsmittelindustrien) massiv reduzieren lassen.

Neben all den erhofften Vorzügen der stammzellbasierten Techniken dürfen jedoch die ethischen Bedenken hinsichtlich mancher Entwicklungen niemals übersehen werden (s. oben „Sheefs“, [47]). So wird sicherlich der derzeitige Hype von iPSC-basierten Organoidtechnologien in mancher Hinsicht auch in einer Sackgasse enden, aber insgesamt betrachtet sind deren große Hoffnungen nicht nur angebracht, sondern haben sich teilweise schon erfüllt. Für Außenstehende mag der überschwänglich gefeierte Aufschwung in der regenerativen Medizin wie ein Phönix aus

der Asche erscheinen. Jedoch, wie hier aufgezeigt, wurden diese revolutionären Techniken der Herstellung von stammzellbasierten Organoiden nur durch Zellforschungen über ein ganzes Jahrhundert hindurch an dreidimensionalen Suspensionskulturen ermöglicht. Biologen haben mit ihren Untersuchungen mithilfe einfachster Methoden und an einfachen Tiermodellen ganz wesentliche Fragen der Zellbiologie beleuchtet. Ihre Analysen mit Zellreaggregaten dieser verschiedenen Modelle – mit der Retina als hervorragendem Modell – haben wesentlich zum Verständnis von Zellkommunikation, dem *sorting out*, der Zelladhäsion und nachfolgenden Prozessen der Zell- und Gewebedifferenzierung beigetragen. Es wurde erkannt, dass sich Stammzellen *in vitro* teilen und differenzieren, um dann eine weit fortgeschrittene Gewebebildung zu erzielen. Vielfältige Forschungen zum Verhalten von (Stamm-)Zellen in 3D-Suspensionskulturen über ein Jahrhundert hinweg haben somit den Weg zu vormals nie erwartbaren, umwälzenden Fortschritten in der Medizin geebnet. Es sollte daher nicht verkannt werden, dass Innovationen in der Medizin und vielen anderen Bereichen (s. oben) neben den notwendigen technischen Entwicklungen zu einem Großteil von biologischen Erkenntnissen abhängen.

*Danksagung:* Mein Dank geht an Professor Alfred Gierer, ehemaliger Direktor am MPI für Entwicklungsbiologie in Tübingen, der mir vielfältige Anregungen und die Arbeitsmöglichkeiten zu diesem Projekt gegeben hat. Meinen zahlreichen Schülern dort wie an der TU Darmstadt danke ich für ihren Einsatz für dieses Projekt. Der vorliegende Text ist die Ausarbeitung eines von Dr. Anja Heselich eingeladenen Vortrags im Juli 2023 am Universitätsklinikum Frankfurt.

#### Literatur

- [1] P.G. Layer, *J. Neurosci. Meth.* **405**, 110083 (2024) – [2] I. Jahn, *Geschichte der Biologie*, 3. Aufl., Spektrum Akademischer Verlag – [3] S.F. Gilbert, M.J.F. Barresi: *Developmental Biology*, 12th Edition. Sinauer (2020) – [4] R.G. Harrison, *Anat. Rec.*, **1**, 116 (1907) – [5] W. Roux, *Zeitschr. Biol.*, **21**, 411 (1885) – [6] H. Driesch, *Arch. Entwicklunsmech. Organism.* (1895) – [7] P.G. Layer, *Naturwiss. Rund.*

**GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN:**

**Abkürzungen für Retina:** GCL – Ganglienzellschicht; INL, ONL – inner und äußere Körnerschicht; IPL, OPL – innere und äußere plexiforme Schicht; MC – Müller'sche radiale Gliazelle; OS – äußere Segmente der Photorezeptoren; PR – Photorezeptor (Stäbchen, Zapfen); RPE – retinales Pigmentepithel;

**Blastocyste:** auch Keimblase, besteht aus PSCs und stellt zusammen mit dem Trophoblasten den Säugeremryo kurz vor der Einnistung in die Uterusschleimhaut dar; aus ihr entwickelt sich der eigentliche spätere Körper;

**Embryonale Stammzellen (ESC):** Zellen des Embryos, die teilungsfähig sind; im engeren Sinne der Stammzellbiologie bezeichnen sie totipotent oder pluripotente Stammzellen des frühen Embryos;

**Emergenz:** Auftauchen neuer Eigenschaften auf höherer Organisationsebene durch Zusammenwirken von mehreren Faktoren auf niedrigerer Ebene;

**Endothel:** Zellschicht, die das Innere von Blutgefäßen auskleidet;

**Fibroblasten:** Bindegewebszellen;

**Gastrulation:** massive Umorganisation des Embryos aus dem Blastulastadium, wodurch die drei Keimblätter Ekto-, Meso- und Entoderm ausgebildet werden;

**Induzierte pluripotente Stammzellen (iPSC):** aus ausdifferenzierten Zellen durch genetische Manipulation reprogrammierte pluripotente Stammzelle;

**Keimblätter:** Entoderm, Mesoderm, Ektoderm; diese entstehen bei der -> Gastrulation; aus ihnen entwickeln sich jeweils bestimmte Zelltypen, Körperteile und Organe;

**Organoid:** aus Stammzellen in Reaggregationskultur gezüchtete dreidimensionale Gewebestruktur, die eine *in-vivo*-Struktur nachbildet, z.B. Retina, Gehirn, Nieren, etc.;

**Pluripotente Stammzellen (PSC):** vermehrungsfähige Zellen, aus welchen Zellen aus allen drei Keimblättern entstehen können;

**Primitivstreifen:** längliche Einbuchtung in Blastocyste bei Vögeln und Säugetieren; entspricht dem Urmund und markiert das Gastrulationsstadium;

**Regenerative Medizin:** gezielte Manipulation von Stammzellen zur *in-vitro*-Züchtung bestimmter Gewebe in Zellkultur (auch patientenspezifisch), um diese dann in Patienten (Trans-/Implantation), oder analytisch einzusetzen (siehe auch -> *Tissue Engineering* und weitere Anwendungen im Text);

**Regulation (biol.):** fehlende Zellen oder Gewebeteile werden durch/ aus andere(n) ersetzt;

**Reprogrammierung:** s. -> iPSCs;

**Stammzellen:** Zellen, die (noch) teilungsfähig sind;

**Tissue Engineering (TE):** Stammzellbasierte Gewebezucht, wobei die technischen Methodiken im Vordergrund stehen (Geräteausstattung, Materialien, IT-Methoden, Verfahrenstechnik, etc.);

**Zellsphäroid:** dreidimensionale histotypische Zellstruktur, die durch Reaggregation aus embryonalen Stammzellen in Suspensionskultur hergestellt wird; z.B. aus embryonaler Netzhaut entstehen Retinosphäroide.

74(5), 228 (2021) – [8] H.v.P. Wilson, *J. Exp. Zool.*, **5**, 245 (1905) – [9] W. De Morgan, *G.H. Drew, J. Mar. Biol. Assn. U.K.*, Vol. X, 440 (1913–1915) – [10] P.S. Galtsoff, *Biol. Bull. Mar. Biol. Labor. Woods Hole*, **45**, 153 (1923) – [11] A. Gierer, *Int. J. Dev. Biol.*, **56**, 437 (2012) – [12] A.M. Boehm, *et al.*, *BioEssays*, **35**, 994 (2013) – [13] T.W. Holstein, *Cells Develop.*, **174**, 203846 (2023) – [14] A.A. Moscona, *Sci. Am.*, **200**, 132 (1959) – [15] H. Fujisawa, *Wilh. Roux Arch. Entw. Org.*, **171**, 312 (1973) – [16] M.S. Steinberg, *Science*, **137**(3532), **762** (1962) – [17] G. Vollmer, *et al.*, *Neurosci. Letts.*, **48**(2), 191 (1984) – [18] A. Rothermel, *et al.*, *Proc. R. Soc. London Ser.B*, **264**, 1293 (1997) – [19] P.G. Layer, E. Willbold, *Progr. Ret. Eye Res.*, **13**, 197 (1994) – [20] M. Rieke, *et al.*, *Int. J. Stem Cell Res. Ther.*, **5**, 1 (2018) – [21] S. Nakagawa, *Dev. Biol.*, **260**, 414 (2003) – [22] P.G. Layer, *et al.*, *NeuroReport*, **12**, A39 (2001) – [23] P.G. Layer, *et al.*, *Trends Neurosci.*, **25**, 131 (2002) – [24] A. Rothermel, P.G. Layer, *Eur. J. Neurosci.*, **13**, 949 (2001) – [25] V. Jacob *et al.*, *Cells Tiss. Organs*, **180**(3), **159** (2005) – [26] K.N. *et al.*, *J. Ocul. Biol. Dis. Inform.*, **2**, 1 (2009) – [27] E. Willbold, *et al.*, *Dev. Neurosci.*, **24**, 504 (2002) – [28] G. Bachmann, *et al.*, *Invest. Ophthalm. Vis. Sci.*, **60**, 4759 (2019) – [29] E. Willbold, *et al.*, *Int. J. Dev. Biol.*, **40**, 1151 (1996) – [30] C. Finkbeiner, *et al.*, *Cell Reports*, **38**, 110294 (2022) – [31] A.H. Bytyqi, *et al.*, *Eur. J. Neurosci.*, **26**, 1560 (2007) – [32] P.G. Layer, in: *Emergence and Modularity in Life Sciences* (eds. U. Lüttge, L.H. Wegner), 145–170 (2019). ISBN 978-3-030-06127-2 – [33] P.G. Layer, *BioCosmos*, **2**(1), 0002 (2022) – [34] B. Joddar, *et al.*, *Transl. Res.*, **250**, 46 (2022) – [35] Y. Miura, *et al.*, *Nat. Protoc.*, **17**, 15 (2022) – [36] K. Takahashi, K., S. Yamanaka, *Cell*, **126**(4), 663 (2006) – [37] M. Eiraku, *et al.*, *Nature*, **472**, 51 (2011) – [38] J.S. Meyer, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **106**, 16698 (2009) – [39] X. Zhong, *et al.*, *Nat. Commun.*, **5**, 4047 (2014) – [40] C. Cowan, *et al.*, *Cell*, **182**(6), 1623 (2020) – [41] M. Huch, *et al.*, *Development*, **144**, 938 (2017) – [42] M.A. Lancaster, *et al.*, *Nature*, **501**, 7467 (2013) – [43] B. Koo, *et al.*, *Mol. Cells*, **42**(9), **617** (2019) – [44] S. Tarazi, *et al.*, *Cell*, **185**, 3290 (2022) – [45] S.E. Harrison, *et al.*, *Science*, **356**(6334), eaal1810, (2017) – [46] S.K. Kar, *et al.*, *Vet. Res.*, **52**, 43 (2021) – [47] N.C. Rivron, *et al.*, *Nature*, **557**, 106 (2018) – [48] C. Ma, *et al.*, *Trends Pharmacol. Sci.*, **42**, 119 (2021) – [49] M. Rieke, *et al.*, *Lab Chip*, **8**, 2206 (2008) – [50] D. Kloss, *et al.*, *Lab Chip*, **8**, 879 (2008) – [51]

A.R. Thomsen, *et al.*, *Lab Chip*, **18**, 179 (2018) – [52] A.W. Daus, *et al.*, *Sens. Act. B*, **165**, 53 (2012) – [53] A. Achberger, *et al.*, *eLife*, 46188, (2019) – [54] S. Schnichels, *et al.*, *Prog. Retin. Eye Res.*, **81**, 100880 (2021) – [55] T. Maeda, *et al.*, *Trends Mol. Med.*, **28**, 388 (2022) – [56] M. Dey, *I.T. Ozbolat, Sci. Rep.*, **10**, 14023. (2020).



Prof. em. Dr. Paul Gottlob Layer (Jahrgang 1948) studierte Lebensmitteltechnologie und Ernährungswissenschaften an der Universität Stuttgart-Hohenheim. Nach dem Diplom wechselte er in die Neurochemie und wurde an der Universität Konstanz mit Arbeiten zur Photoaffinitätsmarkierung von cholinergen Proteinen (AChR, AChE) promoviert. Anschließend erforchte er als Postdoktorand an der Stanford University (USA) die zelluläre Rezeptorbindung des Nervenwachstumsfaktors NGF.

In der Abteilung von Alfred Gierer am MPI für Entwicklungsbiologie in Tübingen wandte er sich der Musterbildung des embryonalen Wirbeltiergehirns und der Retina zu. 1984 erfolgte seine Habilitation in Zoologie an der Universität Tübingen. Seine Forschergruppe konnte er als Heisenberg-Stipendiat bis 1991 am genannten Max-Planck-Institut fortführen. Von 1991 bis 2017 hatte er den Lehrstuhl für Entwicklungsbiologie und Neurogenetik an der TU Darmstadt inne. In dieser Zeit erfolgten seine vielbeachteten Arbeiten zur Regeneration von Retinagewebe aus Stammzellen (Tissue Engineering an Organoiden) sowie der Aufklärung von nicht-neuronalen Funktionen von Cholinesterasen. Jeweils mehrmonatige Gastprofessuren und Forschungsaufenthalte führten ihn nach China, Japan und Indien. Seit vielen Jahren beschäftigt er sich mit offenen Fragen zum Neodarwinismus und dem Verhältnis von Naturwissenschaft und Theologie. Seit 2018 befindet er sich im Ruhestand.

Technische Universität Darmstadt, Fachbereich Biologie, Schnittspahnstraße 13, 64287 Darmstadt; E-Mail: layer@bio.tu-darmstadt.de.